

Posudek
na magisterskou diplomovou práci
Bc. Aleny Kodádkové
„Úloha CD4+ a CD8+ T-lymfocytů v imunitní odpovědi
při žaludeční kryptosporidióze savců“

Diplomová práce má všehovšudy 36 stránek. Sedmistránkový úvod přináší základní literární údaje o žaludečních kryptosporidiích a mechanismech přirozené i získané imunity proti nim. Po vytyčení cílů práce jsou na deseti stránkách popsány metodiky práce s kryptosporidii, laboratorními myšmi BALB/c i SCID i schémata imunologických experimentů. Výsledky, včetně pěti tabulek a patnácti grafů, jsou shrnuty na 8 stránkách, na diskuzi stačily 3 stránky. Seznam literatury zahrnuje 61 citací.

Práce je napsána stručně a jasně a ani mnoho chyb a překlepů (např. str. 29- lyzace kompletem) se oponentovi nepodařilo nalézt. Jediná výtka se vztahuje ke grafům na str. 24 a 25, a to, že pro jednotlivé skupiny SCID myši bylo pokaždé použito jiné barevné značení a čtenář tak může průběh infekce kryptosporidii hůře vizuálně porovnávat. Je na místě zdůraznit, že za studií je velké množství laboratorní práce, kterou diplomantka vykonala.


Diplomantce se podařilo optimalizovat metodický postup deplece T lymfocytů a potvrdit klíčovou roli CD4+ T-lymfocytů v imunitě proti žaludečním kryptosporidii. Vytýčené cíle práce tak byly splněny.

Bc. Aleně Kodádkovou bych si dovolil požádat o zodpovězení těchto otázek:

1. Jaký je rozdíl v imunitní odpovědi proti žaludečním a střevním kryptosporidii ?
2. Je známo, zdali v imunitní reakci proti kryptosporidii hrají významnější roli makrofágy aktivované při Th1 odpovědi nebo cytotoxické CD4+T lymfocyty ?
3. Mohou mít použité metodiky lymfocytů vliv na přenos a účinek cytotoxických T lymfocytů proti kryptosporidii ?
4. Jak budou dále využity výsledky této studie ?

Práce Bc. Aleny Kodádkové, „Úloha CD4+ a CD8+ T-lymfocytů v imunitní odpovědi při žaludeční kryptosporidióze savců“ splňuje předepsaná kritéria. Proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě jako magisterská diplomová práce a aby byla kladně hodnocena.

V Praze, dne 30.5. 2009


RNDr. Petr Kodym, CSc.

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Aleny Kodádkové na téma:

Úloha CD4+ a CD8+ T-lymfocytů v imunitní odpovědi při žaludeční kryptosporidii savců

Diplomantka se ve své práci zaměřila na studium jedné složky specifické imunity hostitelského organismu, která se významně uplatňuje při zvládnutí infekce jednobuněčným parazitem *Cryptosporidium muris* a jeho eliminaci. Jedná se o parazita s epitelární lokalizací v hostitelské buňce, který je z hlediska humánní a veterinární medicíny významný zejména tam, kde je ať už primárně či sekundárně oslabený imunitní systém hostitele. A právě v těchto případech je nutno pomýšlet na účinnou léčbu, která by nahradila protektivní odpověď vlastního imunodeficientního systému.

Předložená magisterská práce rozsahu 36 stran je psána srozumitelným jazykem s minimem chyb a překlepů (na str. 11 a 13 jsou zaměněné jednotky délky za jednotky objemu). Práce je klasicky členěna do jednotlivých kapitol.

V úvodu se čtenář poměrně blízce seznamuje s patogenem, kterému je tato práce věnována. Po biologii kryptosporidií, jejich členění do druhů a genotypů se autorka zaměřuje na patogenitu žaludečních kryptosporidií a následnou imunitní odpověď na infekci způsobenou tímto parazitem, která je pečlivě a podrobně zpracována.

Cíle práce jsou stanoveny jasně a jednoznačně.

Z kapitoly Materiál a metody je zřejmé, že autorka zvládla širokou škálu laboratorních technik a na schématech jednotlivých pokusů a jejich vypracování dokazuje, že úspěšně provedla i experimentální část této práce. Bohatost a obsáhlost metodiky však v tomhle případě je možná trošku na úkor přehlednosti samotného experimentu. Výsledky vycházejí z jednotlivých infekčních experimentů. K této části bych měla několik otázek:

1. Na str. 22 v tabulce 6 je napsáno, žev závorce jsou uvedena procenta myší....jakých myší a v jakých závorkách?
2. Na str. 25 na obrázku 3C je přehozeno pořadí jednotlivých skupin sledovaných myší na ose x. Má to nějaký význam?
3. Kromě CD4 a CD8 znaků v izolovaných respektive depletovaných lymfocytech určených pro rekonstituci SCID myší byl sledován také CD45 znak, proč? Pro sledování jednotlivých populací T lymfocytů, bych rozhodně volila kombinaci znaků

CD3+/CD4+ a CD3+/CD8+.

4. Byla přítomnost $\gamma\delta$ T lymfocytů testována i před rekonstitucí? Jakou roli hrají či mohou hrát v žaludeční sliznici při kryptosporidiové infekci?
5. Z jakého důvodu jste zvolila ve třetím experimentu popsany způsob izolace jednotlivých populací T lymfocytů s předchozí deplecí druhé populace než té izolované? Proč nejsou na obrázku 5E a 5F pro třetí experiment zaneseny výsledky pro skupiny CD8 i a CD8 n?
6. Která z použitých metod izolace či deplece se Vám jeví z hlediska studia daných buněčných populací T lymfocytů jako nejvhodnější?
7. A jak byste postupovala teď s ohledem na „čistotu“ přenesených lymfocytů a jejich pravděpodobné dozrávání z prekurzorových buněk v průběhu experimentu?

V diskusi, která je psána jasně a zasvěceně a analyzuje získané výsledky v konfrontaci se světovou literaturou, je nastíněna další možnost studia této problematiky. V každém případě, z imunologického hlediska by si nastolené téma zasloužilo určitě více pozornosti. Pro podpoření teorie, která z obou populací T lymfocytů má protektivní roli při ochraně hostitele při kryptosporidiové infekci, by nebylo úplně od věci, zaměřit se na cytokinový profil charakterizující jednotlivé buněčné populace a koneckonců i na imunitní odpověď imunokompetentního hostitele.

Autorka sepsáním této práce dokázala, že je schopna samostatně pracovat s vědeckou literaturou, plánovat a provést experimenty, porovnat a vyhodnotit získané výsledky. Předloženou magisterskou práci bakalářky Aleny Kodádkové považuji po stránce formální a obsahové za spis, který splňuje standardní požadavky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Práci doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 29.5.2009.

Pavλίna Tínavská

RNDr. Pavλίna Tínavská, PhD.